

Docket No.: 43888-278

**PATENT**

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In re Application of	:	Customer Number: 20277
	:	
Fumihisa KITAWAKI, et al.	:	Confirmation Number:
	:	
Serial No.:	:	Group Art Unit:
	:	
Filed: October 02, 2003	:	Examiner:
	:	
For: ANALYTE SAMPLING ELEMENT, ANALYTE TREATMENT DEVICE AND ANALYTE TREATMENT METHOD		

**CLAIM OF PRIORITY AND  
TRANSMITTAL OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT**

Mail Stop  
Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

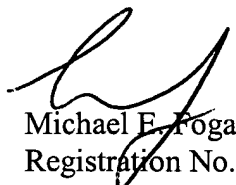
In accordance with the provisions of 35 U.S.C. 119, Applicants hereby claim the priority of:

**Japanese Patent Application No. 2002-289871, filed October 2, 2002**

cited in the Declaration of the present application. A Certified copy is submitted herewith.

Respectfully submitted,

MCDERMOTT, WILL & EMERY

  
Michael E. Fogarty  
Registration No. 36,139

600 13<sup>th</sup> Street, N.W.  
Washington, DC 20005-3096  
(202) 756-8000 MEF:prg  
Facsimile: (202) 756-8087  
**Date: October 2, 2003**



43888-278  
Kita waki et al.  
October 2, 2003

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

McDermott, Will & Emery

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2002年10月 2日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2002-289871  
[ST. 10/C]: [JP2002-289871]

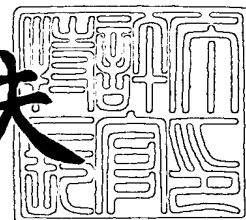
出 願 人  
Applicant(s): 松下電器産業株式会社



2003年 8月 4日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 2033740165

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 33/543  
G01N 33/548  
G01N 33/53

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

【氏名】 北脇 文久

【発明者】

【住所又は居所】 大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地 松下電器産業株式会社内

【氏名】 河村 達朗

【特許出願人】

【識別番号】 000005821

【氏名又は名称】 松下電器産業株式会社

【代理人】

【識別番号】 100072431

【弁理士】

【氏名又は名称】 石井 和郎

【選任した代理人】

【識別番号】 100117972

【弁理士】

【氏名又は名称】 河崎 眞一

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 066936

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0114078

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 検体用サンプリング素子、検体処理方法および検体処理装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 検体を定量的に採取して保持し得る毛細管、および前記毛細管に接して設けられた第 1 の磁性体を具備し、

第 2 の磁性体の運動によって前記第 1 の磁性体とともに前記毛細管を運動させ、前記検体を前記毛細管から放出し、前記検体と前記毛細管の外部の液系とを攪拌しながら混合することを特徴とする検体用サンプリング素子。

【請求項 2】 前記毛細管が、ガラス、石英または金属で構成されていることを特徴とする請求項 1 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 3】 前記第 1 の磁性体および前記第 2 の磁性体が、強磁性体または常磁性体で構成されていることを特徴とする請求項 1 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 4】 前記第 2 の磁性体の運動が、回転運動、振幅運動または単振動であることを特徴とする請求項 1 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 5】 第 1 の試薬として、前記検体に含まれる物質と反応する試薬  $a_1$  および／または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬  $b_1$  を担持していることを特徴とする請求項 1 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 6】 前記第 1 の試薬を担持している領域が密封されていないことを特徴とする請求項 5 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 7】 前記試薬  $a_1$  が、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸であることを特徴とする請求項 6 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 8】 前記物質が、蛋白質、ホルモン、抗体、酵素、抗原または核酸であることを特徴とする請求項 6 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 9】 前記試薬  $b_1$  が、無機塩または界面活性剤であることを特徴とする請求項 6 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 10】 前記細胞が、赤血球、白血球または血小板であることを特徴とする請求項 6 記載の検体用サンプリング素子。

【請求項 11】 前記試薬  $b_1$  により破壊された前記細胞から放出される成

分が、蛋白質、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質、ホルモン、脂質、抗体、酵素、抗原、レセプター、インヒビター、DNAまたはRNAであることを特徴とする請求項10記載の検体用サンプリング素子。

【請求項12】 (a) 第1の磁性体を具備する毛細管に、毛細管現象によって検体を定量的に採取して保持させる工程、(b) 前記毛細管を液系に接触させる工程、(c) 磁力によって前記毛細管を前記液系内において運動させ、前記毛細管から前記検体を放出させるとともに、前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合する工程を含む検体処理方法。

【請求項13】 前記工程(a)の前に、前記毛細管に第1の試薬として前記検体に含まれる物質と反応する試薬a<sub>1</sub>および／または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬b<sub>1</sub>を担持させる工程を含むことを特徴とする請求項12記載の検体処理方法。

【請求項14】 前記試薬a<sub>1</sub>が、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸であることを特徴とする請求項13記載の検体処理方法。

【請求項15】 前記物質が、蛋白質、ホルモン、抗体、酵素、抗原または核酸であることを特徴とする請求項13記載の検体処理方法。

【請求項16】 前記試薬b<sub>1</sub>が、無機塩または界面活性剤であることを特徴とする請求項13記載の検体処理方法。

【請求項17】 前記細胞が、赤血球、白血球または血小板であることを特徴とする請求項13記載の検体処理方法。

【請求項18】 前記試薬b<sub>1</sub>により破壊された前記細胞から放出される成分が、蛋白質、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質、ホルモン、脂質、抗体、酵素、抗原、レセプター、インヒビター、DNAまたはRNAであることを特徴とする請求項17記載の検体処理方法。

【請求項19】 前記液系が、緩衝液、前記検体に含まれる物質と反応する試薬a<sub>2</sub>を含む溶液、または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬b<sub>2</sub>を含む溶液であることを特徴とする請求項12記載の検体処理方法。

【請求項20】 前記工程(c)において、前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合すると同時に、前記試薬a<sub>2</sub>が前記検体に含まれる物質と反応

すること、および／または前記試薬  $b_2$  が前記検体に含まれる細胞を破壊することとを特徴とする請求項 19 記載の検体処理方法。

【請求項 21】 前記試薬  $a_2$  が、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸溶液であることを特徴とする請求項 20 記載の検体処理方法。

【請求項 22】 前記試薬  $b_2$  が、無機塩または界面活性剤であることを特徴とする請求項 20 記載の検体処理方法。

【請求項 23】 前記工程 (c) において、前記毛細管に担持された前記第 1 の試薬が前記液系に放出されることを特徴とする請求項 13 記載の検体処理方法。

【請求項 24】 前記工程 (c) において、前記検体に含まれる物質と前記第 1 の試薬とが反応することを特徴とする請求項 23 記載の検体処理方法。

【請求項 25】 前記検体が体液であることを特徴とする請求項 12 記載の検体処理方法。

【請求項 26】 前記検体が血液、尿、唾液、涙または汗であることを特徴とする請求項 25 記載の検体処理方法。

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【0001】

#### 【発明の属する技術分野】

本発明は、検体に含まれる物質を分析するにあたって前記検体を簡易に処理するための素子、および前記素子を用いた検体処理方法に関する。したがって、本発明は主として臨床検査分野に属する。

##### 【0002】

#### 【従来の技術】

近年、分析技術、解析技術および検査技術の進歩により、様々な物質を測定することが可能となってきた。特に臨床検査分野においては、生化学反応、酵素反応または免疫反応などの特異反応に基づく測定原理の開発により、病態に反映する体液中の物質を測定できるようになった。これに追随し、より多くの検体についてより多くの項目を測定し得ること（多検体多項目測定）を目的として、様々な大型自動化装置も開発されてきた。かかる自動化装置によれば、装置を構

成する部品の性能の向上に加え、その装置において用いられる反応試薬の性能の向上により、高感度で高精度の測定が可能である。

#### 【0003】

現在では、例えば総合病院などの大きな病院の中央臨床検査センターが大型自動化装置を所有しており、ここで、日々送られてくる多種多様な検体が検査されている。一般的に、自動化装置で測定される検体は前処理を施され、さらに必要ならば希釈操作などを行われ、その後に測定が開始される。例えば、血液の場合であれば、血球と血漿とを分離する前処理が行われる。したがって、中央臨床検査センターの検査装置使用者には必要最低限の専門性が要求される。

#### 【0004】

一方、昨今においては、ポイント・オブ・ケア・テストイング（POCT）と呼ばれる臨床検査分野が注目されている。POCTは、上述した中央臨床検査センターで行われる検査に相反する考え方に基づき、検体を採取してから検査結果が出るまでの時間を短縮させ、簡易で迅速な測定を第一の目的としている。したがって、POCTには、簡易な測定原理、ならびに小型で携帯性および操作性に優れた測定装置が要求される。近年の技術開発の進歩により、例えば血糖センサに代表されるように、簡単に測定できる小型の測定機器が開発されている。

#### 【0005】

また、POCTの効果としては、迅速な測定結果の取得による迅速で正確な診断を可能とすることに加え、検査にかかるコストの低減、血液などの検体の少量化に伴う被検者の負担の軽減、および感染性廃棄物の少量化などが考えられる。現在、臨床検査はPOCTへの移行が急速に起こっており、そのニーズに応える形で、POCTに対応する測定機器の開発が行なわれている。

#### 【0006】

POCTに対応する測定機器としては、上述した血糖センサに代表される酵素電極反応を利用した酵素センサの他に、妊娠診断薬に代表される免疫抗原抗体反応を利用した定性免疫センサなどがある。最近では定量免疫センサも開発されて商品化されつつある。いずれも、簡易測定原理の構築と、それに伴う生体成分の固相化技術、センサデバイス化技術およびセンサシステム化技術の進歩とによる



ものである。さらには、上述した中央臨床検査センターが所有する大型自動化装置の小型化技術の開発も行なわれつつある。

#### 【0007】

ところで検体の検査は、一般的に、①検体採取、②検体処理、③測定（反応）系へ検体導入、④検体の希釈、⑤試薬導入、⑥反応、⑦検出、⑧未反応物除去、および⑨検体中の物質の測定の9つの工程によってなされる。また、大型自動化装置においては、主として③～⑨の工程が自動化されており、多検体多項目測定が可能である。

#### 【0008】

##### 【発明が解決しようとする課題】

しかし、①および②の工程、例えば、血液からの血球分離操作、さらに高濃度蛋白質の希釈操作などの工程は自動化されていない。したがって、これらの工程が検査時間の大部分を占め、迅速な結果を得るのに障害となっていた。また、検体処理に関する専門性を必要とし、誰もが行える操作ではなかった。これらのことは、今後、臨床検査の重要な位置付けとなるPOCTを意識して、大型自動化装置が小型化されたとしても、検体前処理工程での問題となることである。

#### 【0009】

一方、例えば血糖センサなどのPOCT対応装置は、②の工程を必要とせず、①の工程の後に検体がセンサデバイスに流れ込む過程において、③～⑧の工程が短時間で行われる。妊娠診断薬の場合も同様である。しかし、POCT対応装置のすべてがこのようなセンサシステムを取り得るとは限らず、やはり、①および②、時には③および④の工程において、手動による操作が要求されるものが多く問題であった。すなわち、現状のPOCT対応装置のほとんどは、④～⑨の工程のみを簡易化して実施するにすぎない。

#### 【0010】

そこで、本発明は、あらゆる自動化小型装置またはPOCT対応装置に適用できるもので、①～③、④または⑤の工程を簡易に操作性良く行うことのできる検体用サンプリング素子、およびこれを使用した検体均一混合方法を提供することを目的とする。

## 【0011】

## 【課題を解決するための手段】

本発明は、上記の目的を実現するために、検体を定量的に採取して保持し得る毛細管、および前記毛細管に接して設けられた第1の磁性体を具備し、

第2の磁性体の運動によって前記第1の磁性体とともに前記毛細管を運動させ、前記検体を前記毛細管から放出し、前記検体と前記毛細管の外部の液系とを攪拌しながら混合することを特徴とする検体用サンプリング素子を提供する。

前記毛細管は、ガラス、石英または金属で構成されているのが好ましい。

前記第1の磁性体および前記第2の磁性体は、強磁性体または常磁性体で構成されているのが好ましい。

## 【0012】

前記第2の磁性体の運動が、回転運動、振幅運動または単振動であるのが好ましい。

前記検体用サンプリング素子は、第1の試薬として、前記検体に含まれる物質と反応する試薬  $a_1$  および／または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬  $b_1$  を担持しているのが好ましい。この第1の試薬は前記毛細管に一体化された第2の毛細管の内部に担持されているのが好ましい。その他の態様については後述する。

また、前記第1の試薬を担持されている領域が密封されていないこと、すなわち外部に開放されていることが好ましい。

## 【0013】

前記試薬  $a_1$  は、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸であるのが好ましい。

また、前記検体に含まれる前記物質は、蛋白質、ホルモン、抗体、酵素、抗原または核酸であるのが好ましい。

前記試薬  $b_1$  は、無機塩または界面活性剤であるのが好ましい。

前記検体に含まれる前記細胞は、赤血球、白血球または血小板であるのが好ましい。

また、前記試薬  $b_1$  により破壊された前記細胞から放出される成分は、蛋白質

、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質、ホルモン、脂質、抗体、酵素、抗原、レセプター、インヒビター、DNAまたはRNAであるのが好ましい。

#### 【0014】

さらに本発明は、(a) 第1の磁性体を具備する毛細管に、毛細管現象によって検体を定量的に採取して保持させる工程、(b) 前記毛細管を液系に接触させる工程、(c) 磁力によって前記毛細管を前記液系内において運動させ、前記毛細管から前記検体を放出させるとともに、前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合する工程を含む検体処理方法を提供する。

前記検体処理方法は、前記工程(a)の前に、前記毛細管に第1の試薬として前記検体に含まれる物質と反応する試薬 $a_1$ および／または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬 $b_1$ を担持させる工程を含むのが好ましい。

#### 【0015】

前記試薬 $a_1$ は、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸であるのが好ましく、また、前記検体に含まれる前記物質は、蛋白質、ホルモン、抗体、酵素、抗原または核酸であるのが好ましい。

一方、前記試薬 $b_1$ も、無機塩または界面活性剤であるのが好ましく、前記検体に含まれる前記細胞は、赤血球、白血球または血小板であるのが好ましい。また、前記試薬 $b_1$ により破壊された前記細胞から放出される成分は、蛋白質、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質、ホルモン、脂質、抗体、酵素、抗原、レセプター、インヒビター、DNAまたはRNAであるのが好ましい。

#### 【0016】

前記検体処理方法においては、前記液系が緩衝液、前記検体に含まれる物質と反応する試薬 $a_2$ を含む溶液、または前記検体に含まれる細胞を破壊する試薬 $b_2$ を含む溶液を含有するのが好ましい。

また、前記工程(c)において、前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合すると同時に、前記試薬 $a_2$ を前記検体に含まれる物質と反応させること、および／または前記試薬 $b_2$ が前記検体に含まれる細胞を破壊することが好ましい。

前記試薬 $a_2$ は、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸溶液であるのが好

ましく、前記試薬 b<sub>2</sub>は、無機塩または界面活性剤であるのが好ましい。

#### 【0017】

前記工程（c）において、前記毛細管に担持された前記第1の試薬が前記液系に放出されるのが好ましい。

また、前記工程（c）において、前記検体に含まれる物質と前記第1の試薬とを反応させるのが好ましい。

前記検体が体液であるのが好ましく、前記体液が血液、尿、唾液、涙または汗であるのが好ましい。

また、前記反応が、酵素反応、免疫反応もしくはハイブリダイゼーションなどの特異反応、または溶血反応もしくは溶菌反応などの細胞破壊反応であるのが好ましい。

#### 【0018】

##### 【発明の実施の形態】

本発明に係る検体用サンプリング素子は、検体を定量的に採取して保持し得る毛細管、および前記毛細管に接して設けられた第1の磁性体を具備し、第2の磁性体の運動によって前記第1の磁性体とともに前記毛細管を運動させ、前記検体を前記毛細管から放出し、前記検体と前記毛細管の外部の液系とを攪拌しながら混合することを特徴とする。すなわち、毛細管および磁性体（材料）を具備する点に特徴を有する。

#### 【0019】

ここで、毛細管とは、毛管またはキャピラリーともいい、毛細管現象が現れる程度の太さを有する細い管、または、2枚以上の平板などを毛細管現象が現れる程度の隙間をもつように積層させて得られる複合体などのことをいう。例えば、細い繊維を撚り合わせて得られた糸を縦糸および横糸として用い、これらを織り上げて得られる布なども、毛細管現象が現れる程度に繊維同士または糸同士の間に隙間をもたせれば、毛細管として用いることができる。いずれにおいても、毛細管現象がみられるものを総称して毛細管という。

#### 【0020】

つぎに、毛細管現象とは、固体と液体とが界面において平衡状態に達した後、

これらがある形またはある面積をもつ現象のことをいい、液体の表面張力、固体と液体の濡れやすさ、および毛細管の直径の3つの要因が関係している。これら3つの要因と毛細管現象との関係を、水がガラス管内を上昇する現象を例にして簡単に説明する。水分子間には分子間力（凝集力）が働いているが、水面の水分子は空気に接しているため、水の中へ向かう方向にだけ引っ張られている。この水面に働いている力を表面張力といい、一般に水の表面が丸くなっているのはこのためである。

#### 【0021】

このような状態の水に細いガラス管などの毛細管を垂直にしてつけると、水分子に働く分子間力（凝集力）よりもガラス管と水分子との間に働く力（付着力および濡れ易さ）の方が大きいため、水はガラス管の壁に引き寄せられてせり上がり、前記付着力と上昇した水の重さとがつり合う位置まで水は上へ移動する。そして、ガラス管が細いほど上昇した水の重さは軽くなるので、水はより高い位置まで移動する。したがって、毛細管を構成する材料としては、水などの液体に濡れ易いものであればよい。

#### 【0022】

濡れやすさの尺度は、例えば、毛細管を構成する材料と同じ材料からなる平板などに水を垂らし、その広がり度を調べることにより簡易に知ることができる。すなわち、広がりが大きいほどその材料は濡れ易いといえる。具体的には、ガラス、石英または鉄などが挙げられ、いずれも毛細管を構成し得る。本発明における毛細管に要求される機能は、検体を毛細管内に定量的に採取して導入し、かつ保持することにある。すなわち、検体の多種多様な分析を行うまでの一連の操作において、サンプリングすることである。

#### 【0023】

一方、磁性体とは、磁場において磁化する性質（磁性）を有する物質であって、物質そのものが有する磁場と相互作用する物質をいう。すべての物質は、磁場に対してなんらかの反応を示し、磁場方向に強くひきつけられる強磁性体、弱くひきつけられる常磁性体、弱い反発を示す反磁性体などに区別される。本発明でいう磁性体とは、特に、磁場の方向にひきつけられる強磁性体、または常磁性体

をいい、例えば、磁石にひきつけられる鉄などの金属材料を示す。ここで、本発明における第1の磁性体と第2の磁性体とは、相互にひきつけ合う関係を有する。

#### 【0024】

特に、第1の磁性体に必要な機能は、磁石などの第2の磁性体にひきつけられることに加えて、第2の磁性体の動きに応じてなんらかの運動をすることである。例えば、両者は、第2の磁性体が回転運動をすれば第1の磁性体も回転運動をし、第2の磁性体が振幅運動をすれば第1の磁性体も振幅運動し、または、第2の磁性体が回転運動をすれば第1の磁性体も単振動をすることができる関係にあることが必要である。したがって、第1の磁性体は第2の磁性体によって運動させられる程度の重量および寸法などを有する必要がある。

#### 【0025】

本発明に係るサンプリング素子は、毛細管と第1の磁性体とが一体化して形成されている。したがって、第1の磁性体の運動によって毛細管そのものも運動することになる。両者を一体化させる方法としては、例えば、毛細管と第1の磁性体とをテープなどの粘着性材料で巻き付ける方法、毛細管と第1の磁性体とをテフロン製のフィルムなどの材料で包み込む方法、毛細管そのものを磁性を有する材料で形成する方法などが挙げられる。いずれにしても、第1の磁性体の運動により第1の磁性体から毛細管がはずれずに共に運動し得るように一体化されていることが重要であり、一体化の形態にはこれらに限定されるものではない。

#### 【0026】

ここで、図1は、本発明に係るサンプリング素子の概略斜視図である。図1に示すように、本発明に係るサンプリング素子1は、毛細管11と第1の磁性体12とが、例えば粘着性テープ13により一体化されて構成されている。なお、参考のために、図2に、図1の矢印Xから見たサンプリング素子を示し、図3に、図1の矢印Yの方向から見たサンプリング素子を示した。

#### 【0027】

さらに、毛細管と第1の磁性体とが一体化して構成された本発明に係るサンプリング素子には、第1の試薬が担持されていてもよい。担持の形態としては、例

えば、第1の磁性体にさらに第2の毛細管を一体化させ、この第2の毛細管に溶液状態または乾燥状態の第1の試薬を担持させておく方法、サンプリング素子に器状部分を形成し、当該部分の中に第1の試薬を乾燥状態で担持させておく方法、または、第1の試薬を含浸・担持させたガラス繊維濾紙もしくはセルロース性濾紙などのキャリアをサンプリング素子に一体化させておく方法などが挙げられる。いずれにしても、第1の試薬が零れ落ちないように担持されており、第1の試薬の担持されている領域が密封状態になく、外部に曝露されていることが必要である。

#### 【0028】

ここで、図4は、本発明に係る別のサンプリング素子の概略斜視図である。図4に示すように、本発明に係るサンプリング素子2は、毛細管21と第1の磁性体22とが、例えば粘着性テープ24により一体化されて構成されている。さらに、毛細管21と第1の磁性体22の間には、第1の試薬を含浸・担持したガラス繊維濾紙23が一体的に保持されている。なお、参考のために、図5に、図4の矢印Xから見たサンプリング素子を示し、図6に、図4の矢印Yの方向から見たサンプリング素子を示した。

#### 【0029】

担持させる第1の試薬としては、検体に含まれる物質と反応する試薬 $a_1$ が挙げられ、例えば、酵素、抗原、抗体、レセプターまたは核酸などがある。

酵素としては、例えばグルコースオキシダーゼなどが挙げられ、これは検体中のグルコースと特異的に反応する。

抗原としては、主として検体中に存在する前記抗原に対する抗体と特異的に反応する蛋白質などが挙げられる。なお、検体中に存在する抗体とは、例えばHCV抗体、またはHIV抗体などがある。

#### 【0030】

抗体としては、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、Fab抗体、F(ab)<sub>2</sub>抗体、またはFv抗体などが挙げられ、前記検体中に存在する抗原から作製することができる。なお、検体中に存在する抗原とは、蛋白質、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質またはハプテンなどである。

レセプターとしては、例えば検体中に含まれるステロイド、甲状腺ホルモン、ビタミン、ペプチドホルモン、増殖因子、サイトカインまたはカテコールアミンなどの生理活性物質と特異的に反応するものが挙げられる。

核酸としては、DNAまたはRNAなどの遺伝子となり得るものが挙げられる。

### 【0031】

したがって、前記検体に含まれる物質とは、蛋白質、ホルモン、抗体、酵素、抗原または核酸などである。

蛋白質としては、アルブミン、グロブリン、ミオグロビン、プロラミン、グルテリン、ヒストンおよびプロタミンなどの20種類のアミノ酸のみで構成される蛋白質、感染症マーカーのC反応性蛋白質（CRP）、血清アミロイドA（SAA）、腫瘍マーカーの癌胎児性抗原（CEA）、 $\alpha$ -フェトプロテイン（AFP）、糖鎖抗原19-9（CA19-9）、糖化ヘモグロビン（HbA1c）、グリコアルブミンなどの糖と蛋白質との複合体であるすべての糖化蛋白質、蛋白質の特定のセリン、トレオニン、チロシン残基のヒドロキシル基にリン酸がエステル結合して得られるすべてのリン酸化蛋白質、ならびに高密度リポ蛋白質（HDL）および低密度リポ蛋白質（LDL）などの脂質と蛋白質の複合体であるすべてのリポ蛋白質などが挙げられる。

### 【0032】

ホルモンとしては、ヒト絨毛性ホルモン（hCG）、黄体形成ホルモン（LH）、トリヨードサイロニン（T3）、サイロキシシン（T4）、甲状腺刺激ホルモン（TSH）、およびインスリンなどが挙げられる。

酵素としては、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ（GPT）、乳酸脱水素酵素（LDH）、ロイシンアミノペプチダーゼ（LAP）、 $\gamma$ -グルタミールトランスぺプチダーゼ（ $\gamma$ -GTP）、コリンエステラーゼ（ChE）、酸性フォスファターゼ（ACP）、および前立腺酸性フォスファターゼ（PAP）などが挙げられる。

抗体としては、HCV抗体、HIV抗体および免疫グロブリン（IgE）など



が挙げられ、抗原としては、ウィルスおよび細菌などが挙げられる。

また、核酸としては、SNPS、DNAおよびRNAなどが挙げられる。

#### 【0033】

また、担持される第1の試薬は、検体に含まれる細胞を破壊する試薬b<sub>1</sub>でもよい。かかる試薬b<sub>1</sub>としては、例えば無機塩または界面活性剤などが挙げられる。無機塩は、細胞内外の浸透圧を変化させ、細胞を収縮または膨張させることで細胞破壊を促す。一方、界面活性剤は、細胞成分である蛋白質の親水性と疎水性のバランスを崩すことにより細胞破壊を促す。

かかる無機塩としては、例えば、塩化ナトリウム、塩化カリウム、フッ化ナトリウム、チオシアン化ナトリウム、およびチオシアン化カリウムなどが挙げられ、界面活性剤としては、例えば、スクロースモノラウレート、オレイン酸ナトリウム、およびドデシル硫酸ナトリウム（SDS）などが挙げられる。

#### 【0034】

また、試薬b<sub>1</sub>によって破壊される細胞としては、例えば、血液中の赤血球、白血球、および血小板などが挙げられる。この場合、赤血球、白血球または血小板内部の物質を細胞外の液系に混合または溶解させることを目的とする。

破壊された細胞から放出される成分としては、例えば、蛋白質、糖化蛋白質、リン酸化蛋白質、ホルモン、脂質、抗体、酵素、抗原、レセプター、インヒビター、DNA、およびRNAなどが挙げられる。

#### 【0035】

さらに、本発明に係るサンプリング素子には、検体に含まれる物質と反応する試薬a<sub>1</sub>と検体に含まれる細胞を破壊する試薬b<sub>1</sub>が同時に担持されていてもよい。この際、前記検体に含まれる物質と反応する試薬a<sub>1</sub>と検体に含まれる細胞を破壊する試薬b<sub>1</sub>とが互いに影響を及ぼさないものでなければならないが、これらの組合せは、本発明の効果を損なわない範囲で当業者であれば適宜選択することができる。

#### 【0036】

ここで、本発明に係るサンプリング素子の使用目的は、簡易かつ迅速に検体をサンプリングし、簡易かつ迅速に検体を液系中などに放出させることにある。し

たがって、本発明は、前記サンプリング素子を用いた検体処理方法にも関する。ここでいう検体処理方法とは、検体を所定の液系に混合したり、溶解したり、希釈したりすることにも含まれる。

#### 【0037】

本発明に係る検体用サンプリング素子を用いた検体処理方法は、(a) 第1の磁性体を具備する毛細管に、毛細管現象によって検体を定量的に採取して保持させる工程、(b) 前記毛細管を液系に接触させる工程、(c) 磁力によって前記毛細管を前記液系内において運動させ、前記毛細管から前記検体を放出させるとともに、前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合する工程を含む。

前記工程(a)の前に、前記毛細管に第1の試薬を担持させる工程を含んでもよい。

#### 【0038】

ここで、有機合成反応および固体の溶解の際に用いる攪拌バー（スターラー・バー）にガラス製毛細管（ガラス管）を一体化してなるサンプリング素子を用いた場合に代表させて、本発明に係る検体処理方法を説明する。

まず、ガラス管内に検体を定量的に上昇および保持（サンプリング）させて、サンプリング素子を対象となる液系中に接触させる（好ましくは浸す）。

#### 【0039】

つぎに、スターラーという装置を用いて、液系外から液系内の攪拌バー（第1の磁性体）を回転運動させる。この回転運動によりガラス管内に保持された検体が液系内に放出させ、さらに前記検体と液とを均一に混合または溶解させるのである。なお、スターラーには第2の磁性体が含まれている。

ガラス管と攪拌バーとは一体となっているため、攪拌バーが回転運動をすることによりガラス管も一体となって回転運動する。そのため、ガラス管に保持された検体は、遠心力により液中に放出され、さらに、攪拌により均一に混合されるのである。

#### 【0040】

なお、サンプリング素子の形状は棒状に限らず、液内で液外の第2の磁性体（例えば磁石）の運動に伴って運動でき、検体が放出されて液全体と均一に混合、

攪拌される程度の重量および寸法を有すればよい。また、液外からの第2の磁性体の運動は、上述のようなスターラーの回転運動に限らず、例えば、振幅運動または単振動であってもよい。重要なのは液に効率よくサンプリング素子に保持された検体を放出させ、さらに液と均一に混合させる運動を行わせる点にある。

#### 【0041】

したがって、本発明に係るサンプリング素子は、「検体サンプリング機能」、「検体を液中に放出する放出機能」および「検体を液と均一に混合させる均一化機能」という3つの重要な機能を有する。サンプリングとは、毛細管現象を利用して毛細管内へ検体を定量的に採取、注入、保持させることをいい、放出とは、毛細管内に保持された検体を液中に放出させることをいう。また、均一化とは、検体と液が均一に混合され、検体に含まれる物質が液中のあらゆる部分で一定の濃度で存在することをいう。

#### 【0042】

また、本発明に係る検体処理方法は、サンプリング素子の毛細管に検体が毛細管現象により定量的に注入される工程、液中において検体が注入された前記サンプリング素子を液外から磁力により運動させる工程、前記運動中において前記毛細管内の検体が液中に均一に混合される工程を含むことを特徴とする検体均一混合方法であるとも言える。

本発明の検体処理方法を用いることで、検体中に含まれる物質を簡易に希釈することができる。例えば、血液中の赤血球内に高濃度に存在するヘモグロビンを前記方法により簡易に希釈することができる。さらに、液中に検体中の物質と反応する試薬が含まれていれば、検体均一溶解の後、直ちに検体中の物質を分析するための反応を行うことができる。

#### 【0043】

ここで、本発明に係る検体処理方法において用いる液とは、緩衝液、検体中に含まれる物質と反応する試薬 a<sub>2</sub>を含む溶液、または、検体中に含まれる細胞を破壊する試薬 b<sub>2</sub>を含む溶液をいう。

緩衝液としては、例えば、リン酸緩衝液、トリス緩衝液、または炭酸緩衝液などが挙げられる。

また、検体中に含まれる物質と反応する試薬  $a_2$  としては、上述した検体中に含まれる物質と反応する試薬  $a_1$  として列挙したものをを用いることができ、検体中に含まれる細胞を破壊する試薬  $b_2$  としては、上述した検体中に含まれる細胞を破壊する試薬  $b_1$  として列挙したものをを用いることができる。

#### 【0044】

本発明に係るサンプリング素子にさらに第1の試薬が担持されている場合、第1の試薬がサンプリング素子の運動中に液中に放出されてもよい。この際、放出された第1の試薬は、前記検体中の物質と反応する試薬  $a_1$  であり、前記検体中の物質と前記試薬  $a_1$  とが均一混合過程において同時に反応する場合もある。

また、本発明の検体均一混合方法に適用される検体としては、例えば体液が挙げられ、さらに具体的には、例えば血液、尿、唾液、涙および汗などが挙げられる。

本発明に係る検体均一混合過程において起こりうる反応は、例えば、酵素反応、免疫反応、ハイブリダイゼーション、溶血反応、または溶菌反応などである。

#### 【0045】

ここで、図面を参照しながら、本発明に係る検体用サンプリング素子およびスターラーを用いた均一混合方法について説明する。

図7は、本発明に係るサンプリング素子を用いた検体処理方法の工程図である。なお、ここでは、図1に示すサンプリング素子1を用いた場合を説明するが、粘着性テープ13は省略した。まず、図7の(a)に示すように、検体30にサンプリング素子1を接触させ、毛細管現象によって毛細管11に検体30を導入する。これにより、図7の(b)に示すように、サンプリング素子1の毛細管11に検体30が保持される。

#### 【0046】

ついで、このサンプリング素子1を、液33を含む反応セル31内に導入し、反応セル31の底面の外側には、例えばスターラーを構成する第2の磁性体であるマグネット32が位置する。第2の磁性体32が回転することによって、サンプリング素子1は液中で回転運動をし、毛細管11に保持された検体が遠心力によって液33中に放出される(図7の(c))。そして、サンプリング素子1の

回転運動による攪拌によって、両者は均一に混合されるのである。このとき、サンプリング素子 1 の毛細管 11 に含まれていた検体 30 は、液 33 と混合され、反応セル 31 中には混合液（または溶解液）34 が存在することになる（図 7 の（d））。

#### 【0047】

つぎに、上記サンプリング素子を用いた検体処理方法を実施するために、本発明は、検体処理装置も提供する。ここで、図 8 に、本発明に係る検体処理装置を用いた検体処理方法の工程図を示す。

図 8 の（a）に示すように、本発明に係る検体処理装置 40 は、ピストン 43 a を具備するとともに液 43 b を保持するシリンジ 43、および液 43 b をシリンジ 43 の内部に保持するためにシリンジ 43 の底に設けられたアルミシール 44 を含む。また、シリンジ 43 の先端部分には、本発明に係るサンプリング素子 1 が取り付けられている。

#### 【0048】

この検体処理装置 40 を使用する場合、図 8 の（a）に示すように、あらかじめサンプリング素子 1 の毛細管 11 に検体 30 を保持させておき、その後、図 8 の（b）に示すように、シリンジ 43 のピストン 43 a を押すことにより、液 33 を含む反応セル 46 内に、サンプリング素子 1 とともに液 43 b を導入する。その後、図 8 の（c）に示すように検体 30 を保持するサンプリング素子 1 および液 43 b を含む反応セル 46 を、例えばスターラーに設置し、サンプリング素子 1 を回転させて、検体 30 を放出させて攪拌しながら液 43 b と均一に混合させる。

#### 【0049】

ここで、図 8 に示す検体処理装置 40 の特徴は、シリンジ形状を有すること、検体に混合される液 43 b が封入されること、脱着可能なサンプリング素子 1 が先端に設けられること、ピストン 43 a を押すとサンプリング素子 1 が外れるとともにアルミシール 44 が破れ、液 43 b が流れ出ること満たす点にある。

シリンジ形状の部分は、例えばプラスチックで構成し、使い捨て可能であるのが好ましい。

また、アルミシール 44 は、液 43 b を漏れない状態で保持し、かつ外力で簡単に破れる機能を有する。したがって、アルミシール 44 の代わりに、かかる機能を有する材料を用いても構わない。

#### 【0050】

つぎに、図 9 に、図 8 に示す検体処理装置 40 の先端部分から、サンプリング素子 1 が着脱される様子を示す。図 9 は、検体処理装置 40 の先端部分の拡大図である。

図 9 に示すように、部材 53 は、芯 53 b およびこの芯 53 b のまわりを上下に移動し得る筒 53 a で構成される。この場合のサンプリング素子 50 における第 1 の磁性体 51 は筒状であり、芯 53 b に突き刺された状態で保持されている。芯 53 b を下に移動させると、保持されていたサンプリング素子 50 が、筒 53 a に押されて芯 53 b から外れる。

#### 【0051】

図 8 および 9 により検体処理装置 40 の機能をまとめると、サンプリング素子 1 が付された検体処理装置 40 を用い、まず、図 8 に示すようにサンプリング素子 1 の毛細管 11 に検体 30 を導入する。つぎに、反応セル 46 内にめがけてシリンジ 43 のピストン 43 a を押すことにより、図 9 に示すように、サンプリング素子 1 を反応セル 46 に導入するとともに、ピストン 43 a の先端でアルミシール 44 を破って液 43 b も反応セル 46 内に導入する。その後は、図 7 の (c) および (d) に示すような操作を行う。

#### 【0052】

また、本発明に係る別の検体処理装置を用いた検体処理方法の工程図を示す。図 10 の (a) に示すように、この検体処理装置 60 は、液 63 b を保持する反応セル 63 a が、サンプリング素子 1 で密封されて構成されている。サンプリング素子 1 の毛細管 11 には検体が保持されている（図示せず。）。

また、検体処理装置 60 は、図 10 の (b) に示すようにサンプリング素子 1 を反応セル 63 a 内に矢印 Z の方向に落とすことのできる機構を有する蓋 62 を具備する。蓋 62 を垂直方向下向きに押すことによりサンプリング素子 1 を反応セル 63 a 内に導入する。なお、図 8 および 10 のいずれの場合、簡易にサンプ

リング、液導入および均一混合を実施することができる。

#### 【0053】

以下に、本発明に係るサンプリング素子を用いた検体均一混合方法について、実施例を参照しながら詳細に説明するが、本発明はこれらだけに限定されるものではない。

#### 【0054】

##### 【実施例】

##### 《実施例1》

本実施例においては、まず図1に示す本発明に係るサンプリング素子を作製した。毛細管11としてガラス管（アズワン株式会社製のEMマイスターミニチャップス）を使用し、第1の磁性体12としてスターラー・バー（アズワン株式会社製のラボワン回転子）を使用した。ガラス管とスターラー・バーとを粘着性テープ13で巻きつけて一体化することにより、図1に示す構造を有する本発明に係るサンプリング素子を作製した。なお、ガラス管の容量は5  $\mu$  lとし、スターラー・バーの寸法は、25 mm  $\times$   $\phi$  8 mmとした。

#### 【0055】

##### 《実施例2～6および比較例1》

本実施例においては、実施例1で作製したサンプリング素子を用いて、図7に示す手順にしたがって本発明に係る均一混合方法を実施し、検体の希釈の効果を調べた。

まず、実施例1と同様にして本発明に係るサンプリング素子を作製した。検体が液に混合、溶解する様子を吸収スペクトルによって観測するために、蒸留水1 mlに色素（和光純薬（株）製のBRILLIANT GREEN）20 mgを溶解して、20 mg/mlの濃度の検体（BG溶液）を得た。

#### 【0056】

当該検体をサンプリング素子の5  $\mu$  lガラス管に注入した後、当該サンプリング素子を5 mlの蒸留水を含むビーカー内に入れ、直ちにスターラー（KOIKE PRECISION INSTRUMENT社製のMIGHTY MAGNETIC STIRRER MODEL-16）により攪拌を行った。攪拌を1分間行った後、ビーカー内の液体を1 ml採取し、その吸収スペ

クトルを測定した。その結果を図 11 の 71 で示した（実施例 2）。

一方、従来どおり、ピペットマン（ギルソン社製）で実施例 1 と同じ検体 5  $\mu$  l を採取し、ビーカー内においてスターラーにより攪拌中の 5 m l の水溶液中に入れ、攪拌を 1 分間行った。その後、ビーカー内の液体を 1 m l 採取し、その吸収スペクトルを測定した。結果を図 11 の 72 で示した（比較例 1）。

図 11 より、本発明に係るサンプリング素子による検体均一混合方法を用いることによっても、従来どおりの均一混合方法を実施することができ、さらに、簡易な検体均一混合方法を提供できることがわかった。

#### 【0057】

さらに、実施例 1 と同様にしてサンプリング素子を作製し、検体の希釈効果を分析した。容量 1  $\mu$  l、3  $\mu$  l、5  $\mu$  l または 10  $\mu$  l のガラス管（アズワン（株）製の EM マイスターミニチャップス）およびスターラー・バー（25 mm  $\times$   $\phi$  8 mm）を用い、容量が 1  $\mu$  l、3  $\mu$  l、5  $\mu$  l または 10  $\mu$  l のサンプリング素子 4 種を作製した。実施例 1 と同じ検体を 4 種類のサンプリング素子に注入し、それぞれビーカーに含まれる 5 m l の水溶液中に導入し、スターラーにより攪拌して希釈を行った。その後、ビーカー内の液体を 1 m l 採取し、その吸収スペクトルを測定した。結果を図 12 に示した（実施例 3～6）。図 12 より、本発明に係るサンプリング素子による検体均一混合方法を用いることにより、検体の希釈系列を作製することができた。

#### 【0058】

##### 《実施例 7～11》

本実施例においては、図 4 に示す構造を有し、塩化カリウムが担持されたサンプリング素子を作製し、血液の溶血を行った。

0.1%、0.5%、1%、5% または 10% の塩化カリウム溶液を含浸させ、凍結乾燥させたガラス繊維濾紙 23（ワットマン社製の F075-14、10 mm  $\times$  30 mm）を用意し、毛細管 21 である容量 3  $\mu$  l のガラス管と、第 1 の磁性体 22 であるスターラー・バーとの間に配置し、粘着性テープ 24 で巻きつけて、塩化カリウムが担持されたサンプリング素子 5 種類を作製した。

これらを 1 m l の全血中に入れ、3 分間攪拌を行った後に、遠心分離により血



球分離を行った。こうして得られた血漿中のへのグロビン濃度を S L S - H b 測定キット（和光純薬（株）製）を用いて測定した。結果を図 13 に示した。図 13 から、塩化カリウムが担持されたサンプリング素子を用いることにより血液の溶血を制御する可能性が示されたことがわかる。

#### 【0059】

##### 《実施例 12》

本実施例においては、図 1 に示す構造を有する本発明に係るサンプリング素子を用いてヒト血清アルブミン測定を行った。

毛細管として容量 3  $\mu$ l のガラス管を含むサンプリング素子を、実施例 1 と同様に作製した。また、検体として、濃度が 0 g/l、0.005 g/l、0.015 g/l、0.046 g/l、0.23 g/l、0.46 g/l、1.5 g/l または 4.6 g/l のヒト血清アルブミンを用いた。

測定は、前記サンプリング素子にヒト血清アルブミン 3  $\mu$ l を注入した後に、当該サンプリング素子をウサギ由来抗ヒトアルブミン抗体とマウス由来抗ヒトアルブミン抗体を含む 1 ml 緩衝液（50 mM MOPS、4% PEG、pH 7.4）の中にいれ、3 分間攪拌を行った後、散乱強度（測定波長 670 nm）を測定した。結果を図 14 に示した。図 14 に示すように、本発明に係るサンプリング素子を用いてヒト血清アルブミンを測定できることが確認された。これは、ヒト血清アルブミン以外の測定項目についても適用できる可能性を示した。

#### 【0060】

##### 【発明の効果】

本発明に係るサンプリング素子およびこれを用いる検体均一混合方法によれば、分析、解析および検査における検体のサンプリングとその前処理を簡易に行うことができ、さらに簡易で迅速な POC T 対応装置の開発に貢献することができる。

##### 【図面の簡単な説明】

##### 【図 1】

本発明に係るサンプリング素子の概略斜視図

##### 【図 2】

図 1 の矢印 X の方向から見たサンプリング素子を示す図

【図 3】

図 1 の矢印 Y の方向から見たサンプリング素子を示す図

【図 4】

本発明に係る別のサンプリング素子の概略斜視図

【図 5】

図 4 の矢印 X の方向から見たサンプリング素子を示す図

【図 6】

図 4 の矢印 Y の方向から見たサンプリング素子を示す図

【図 7】

本発明に係るサンプリング素子を用いた検体処理方法の工程図

【図 8】

本発明に係る検体処理装置を用いた検体処理方法の工程図

【図 9】

図 8 に示す検体処理装置 4 0 の先端部分から、サンプリング素子 1 が着脱される様子を示す図

【図 1 0】

本発明に係る別の検体処理装置を用いた検体処理方法の工程図

【図 1 1】

本発明の実施例における吸収スペクトルと比較例における吸収スペクトルを示すグラフ

【図 1 2】

本発明の実施例における希釈系列を示すグラフ

【図 1 3】

本発明の実施例における溶血反応の測定結果を示すグラフ

【図 1 4】

本発明の実施例におけるヒト血清アルブミンの測定結果を示すグラフ

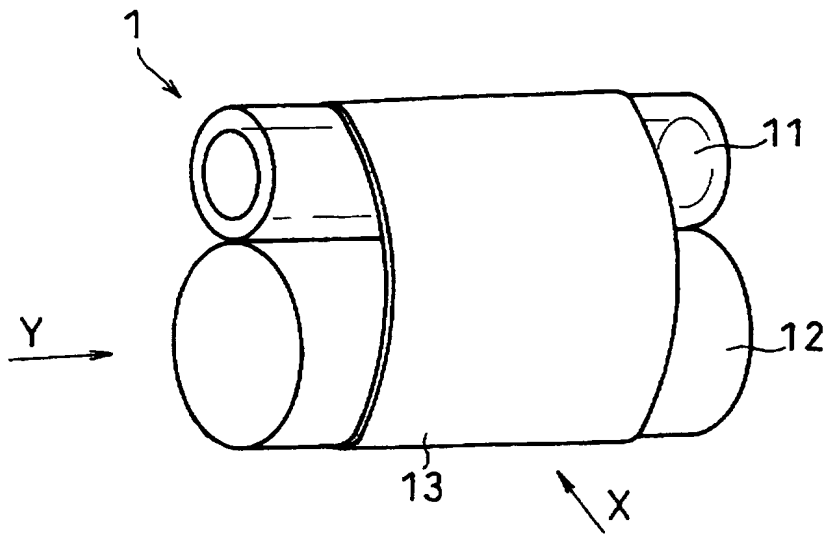
【符号の説明】

1、2                  サンプリング素子

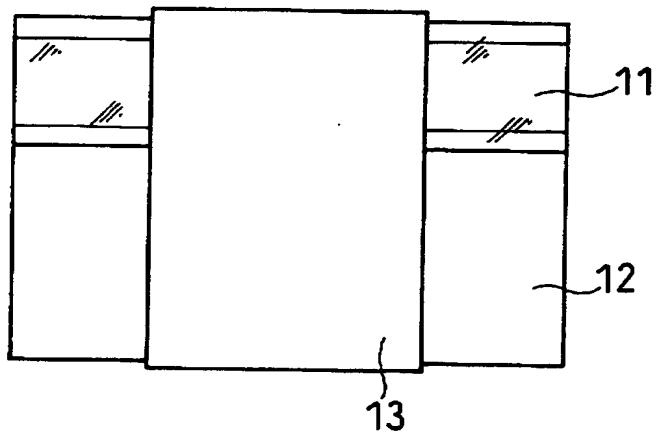
1 1、2 1	毛細管
1 2、2 2	第 1 の磁性体
1 3、2 4	粘着性テープ
2 3	ガラス繊維濾紙
3 0	検体
3 1、6 3 a	反応セル
3 2	第 2 の磁性体
3 3、6 3 b	液
3 4	混合液
4 0、6 0	検体処理装置
4 3	シリンジ
4 3 a	ピストン
4 3 b	液
4 4	アルミシール
4 6	反応セル
4 7	先端部分
6 2	蓋

【書類名】 図面

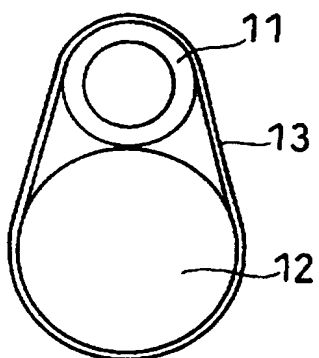
【図 1】



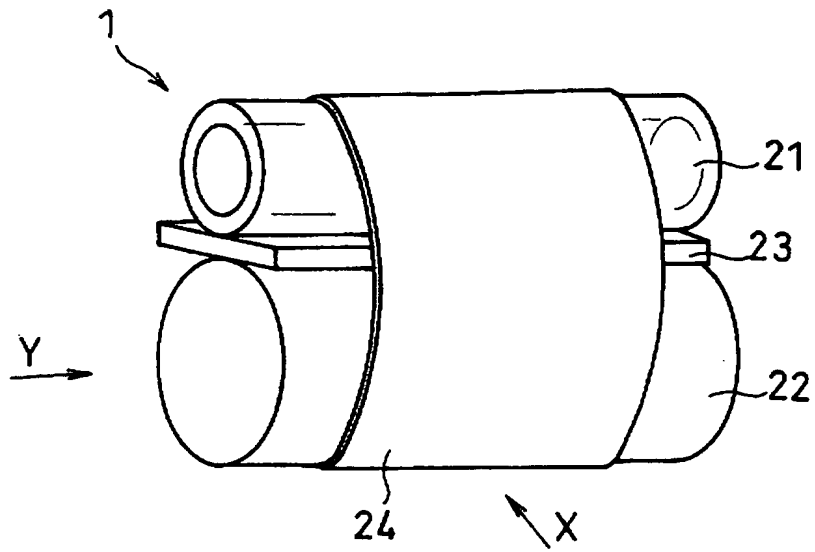
【図 2】



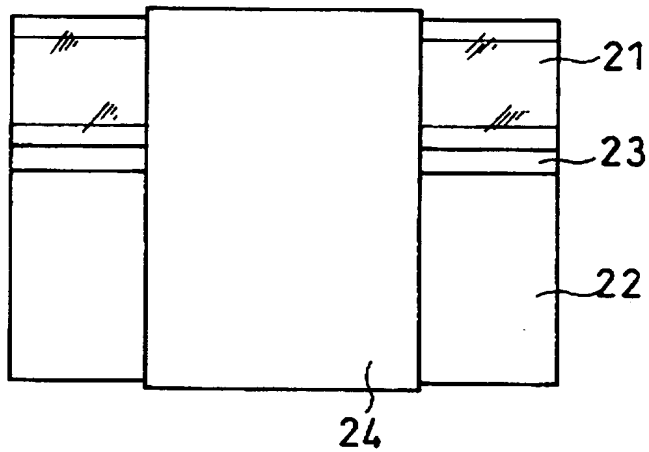
【図 3】



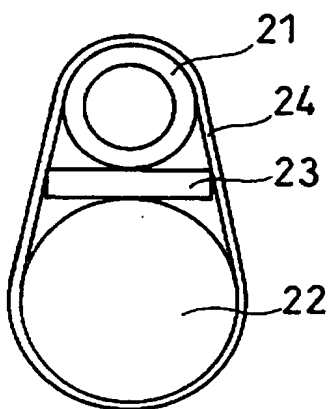
【図 4】



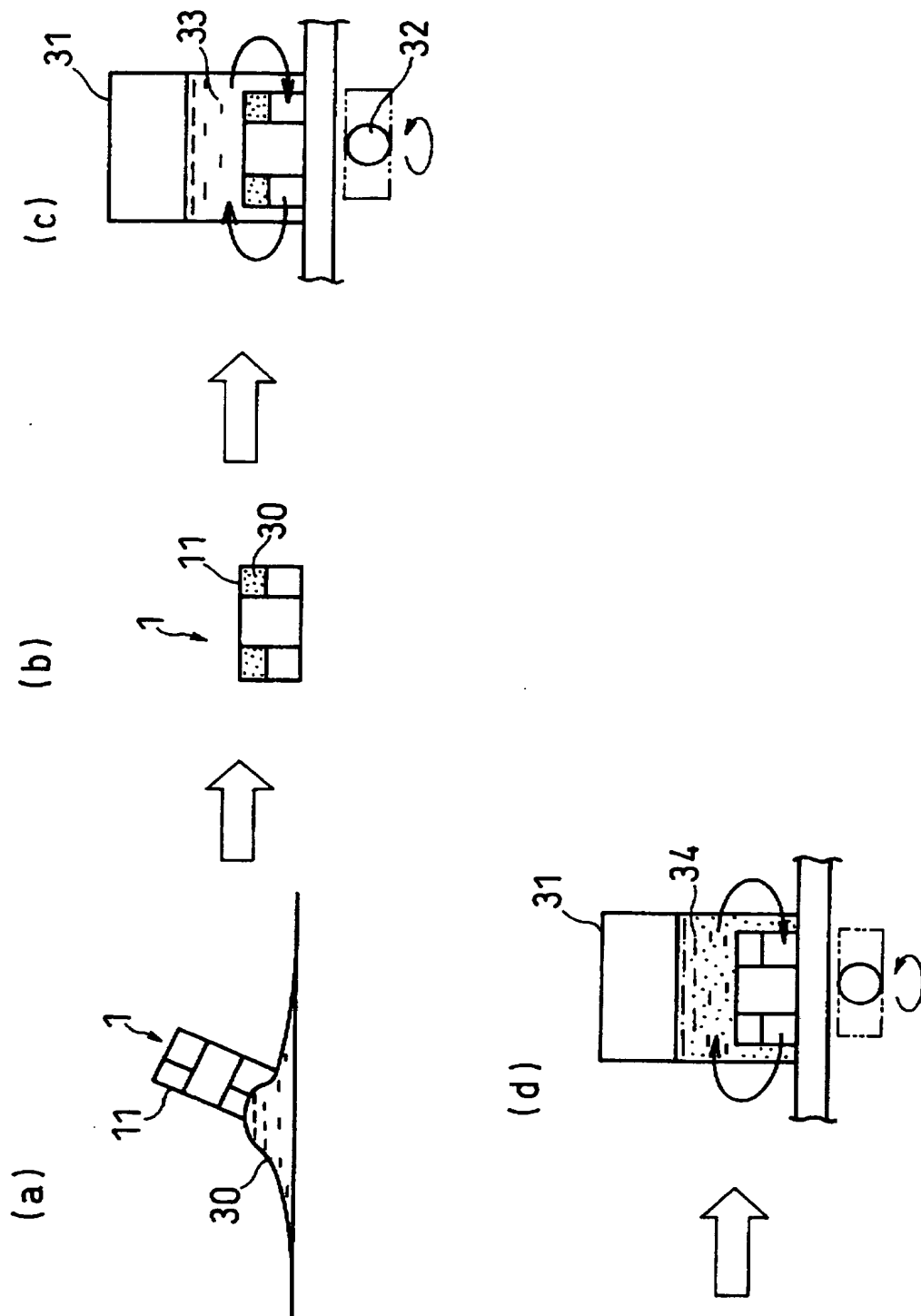
【図 5】



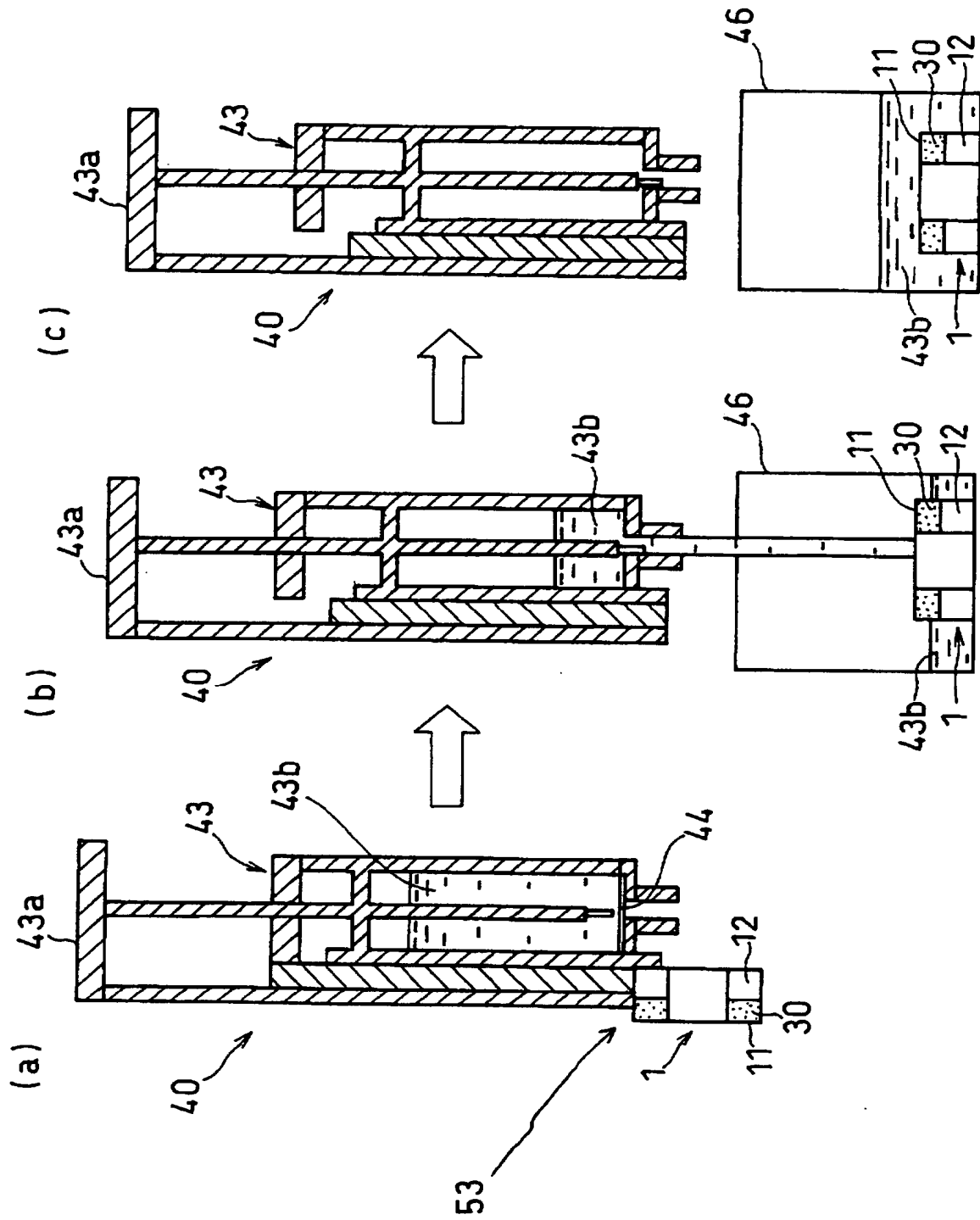
【図 6】



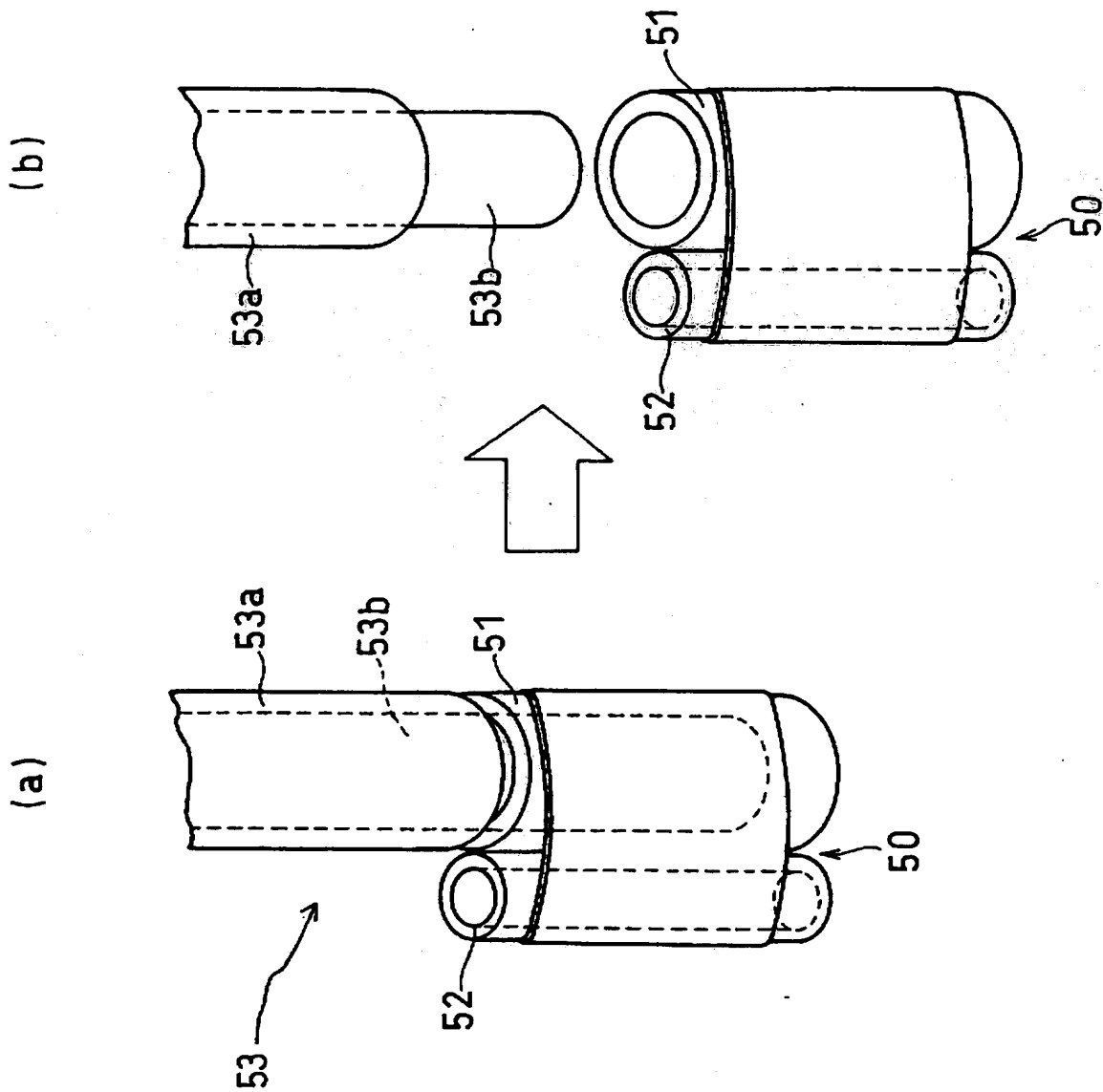
【図 7】



【図 8】

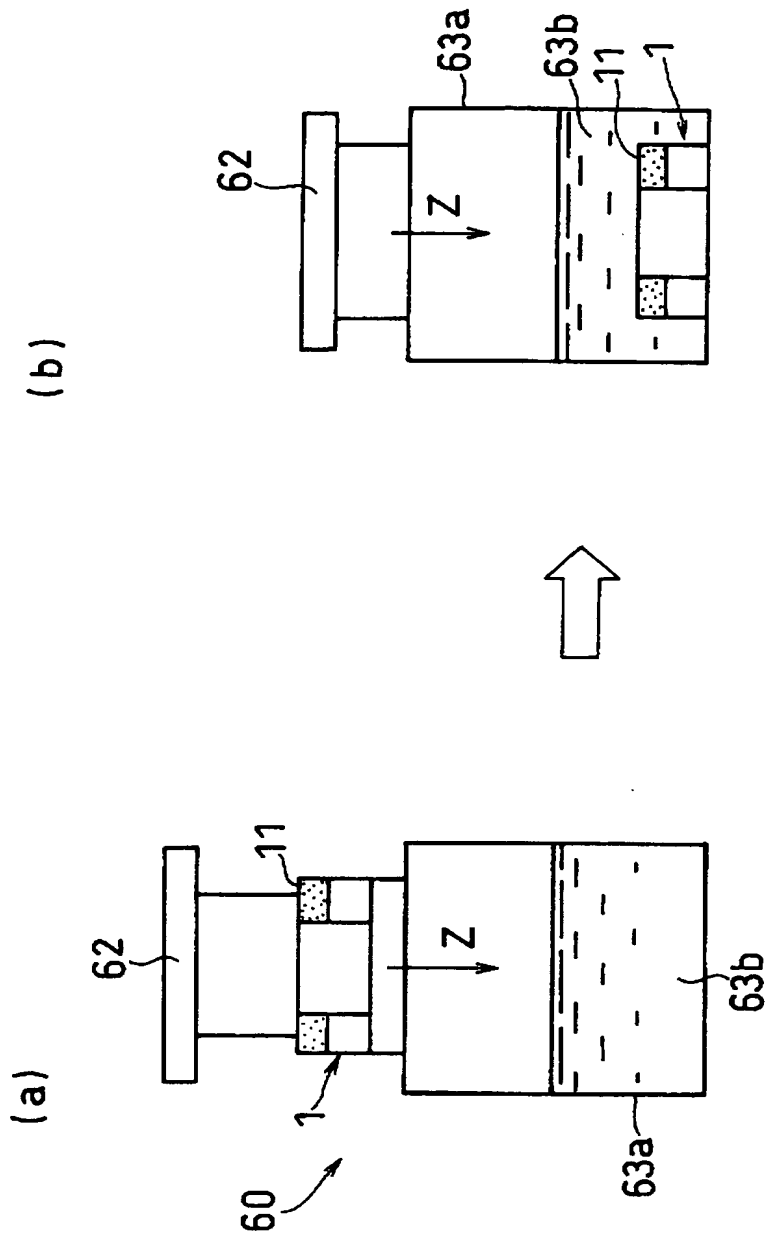


【図 9】

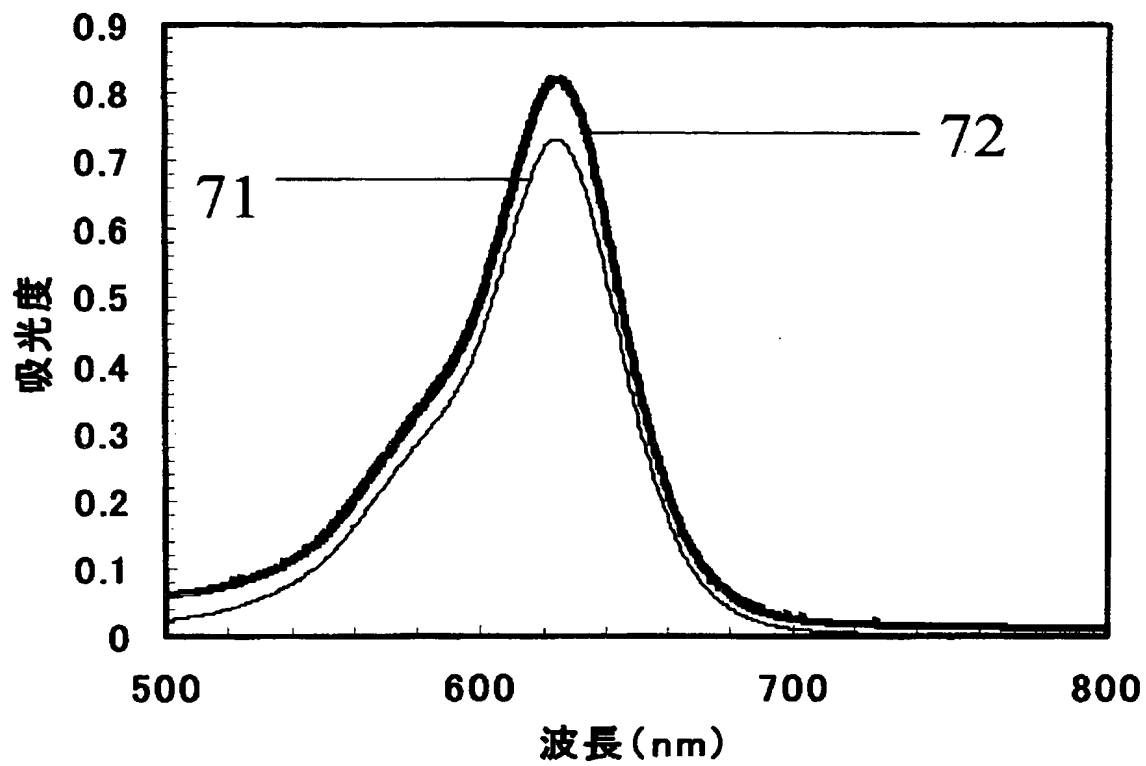




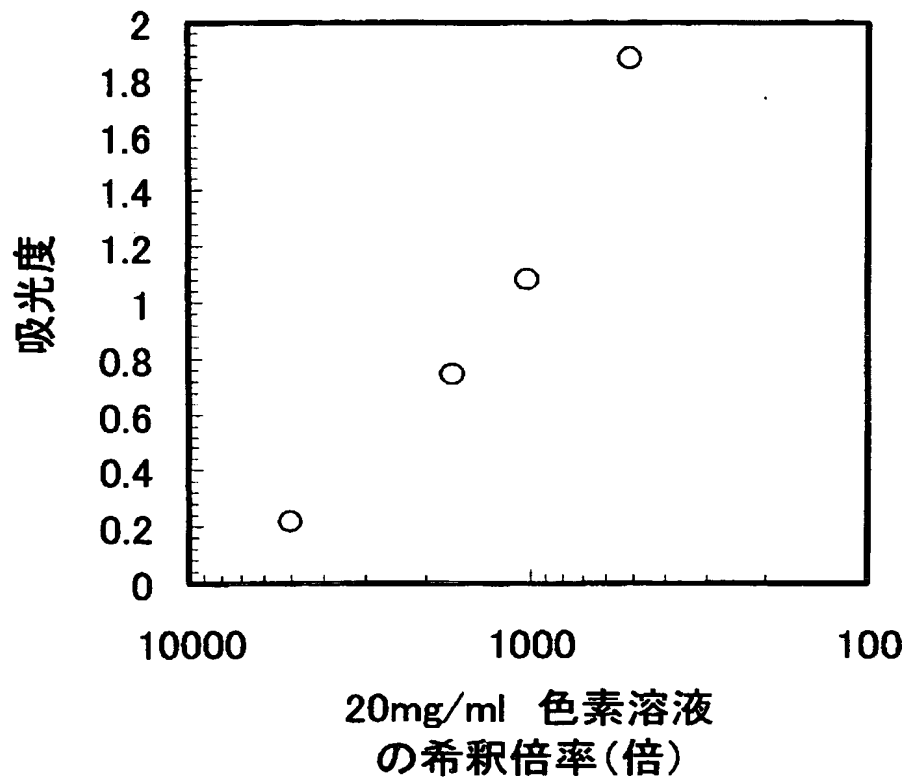
【図 10】



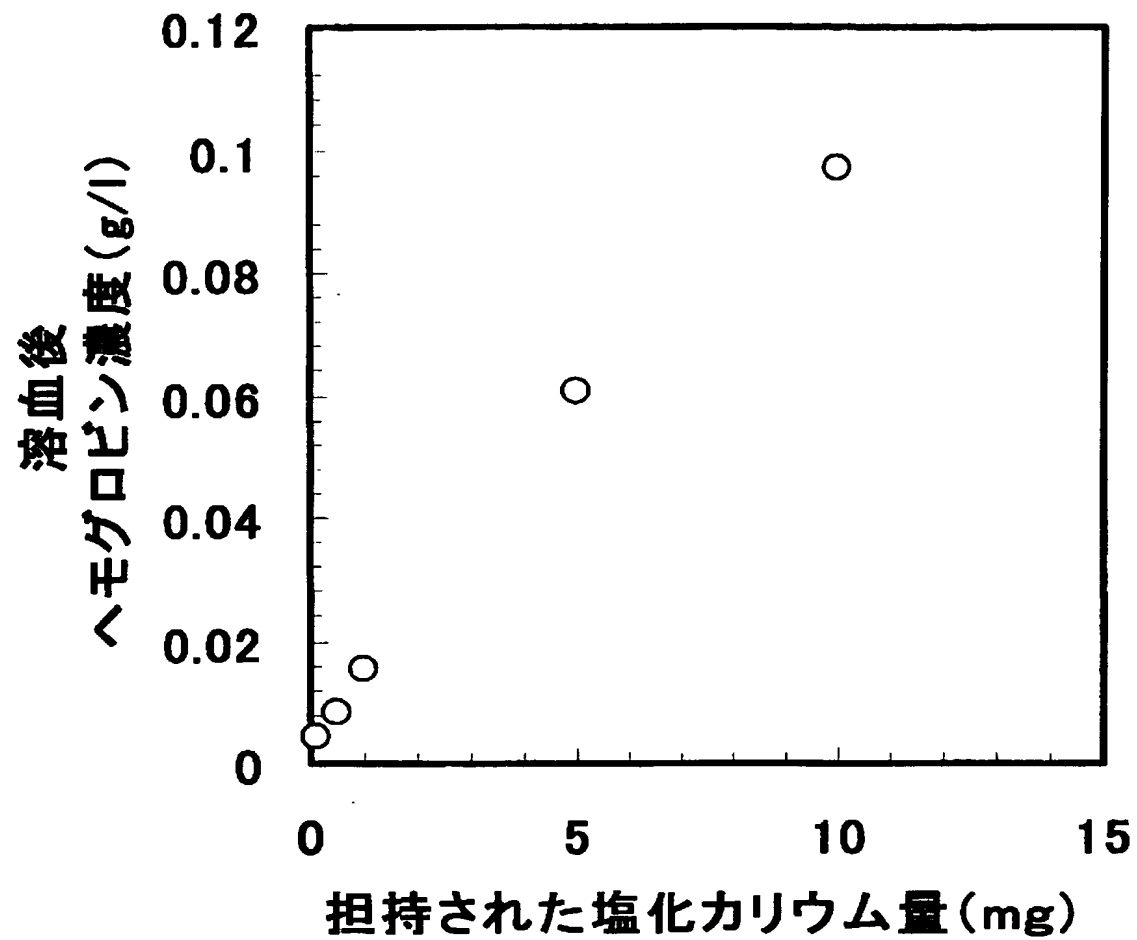
【図 11】



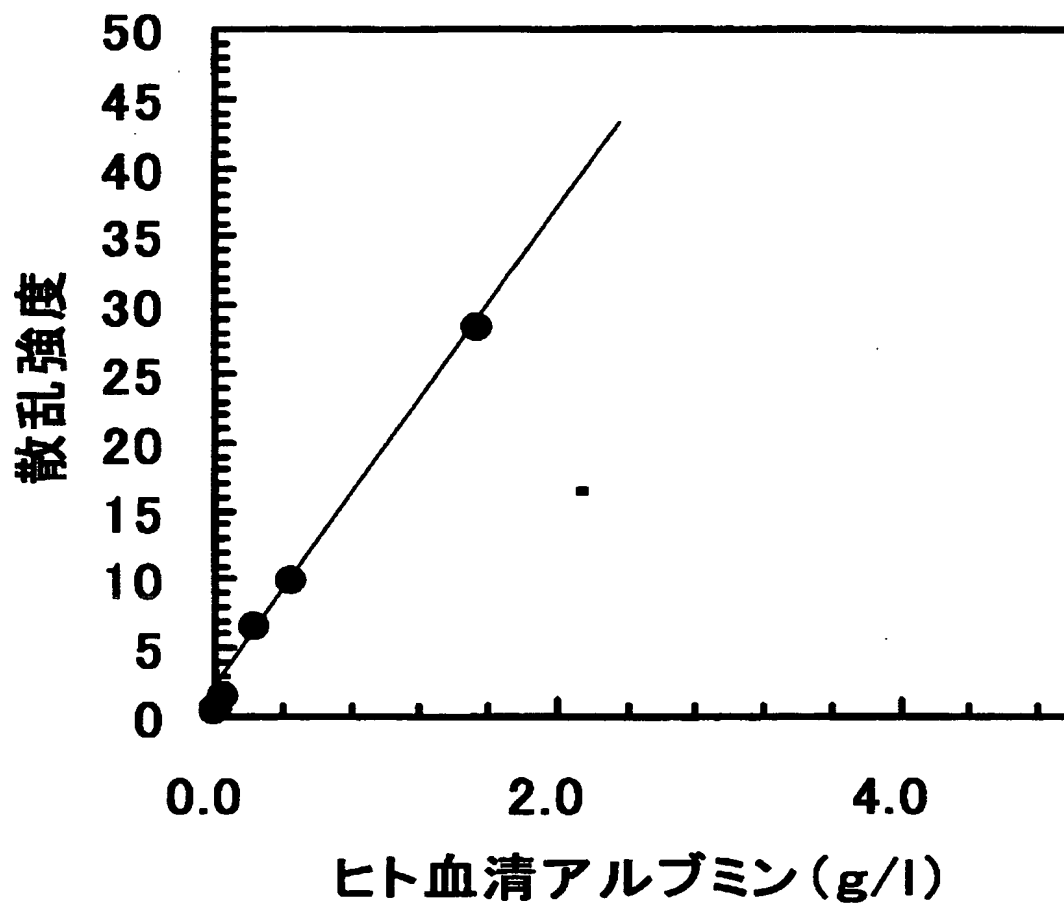
【図 12】



【図13】



【図 14】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 検体の検査において、特に手作業で行われることが多い検体採取、検体処理、測定（反応）系へ検体導入および検体の希釈などの前処理工程全般を簡素化し、大型自動化装置および P O C T 対応装置を用いた検査の操作性を向上し得る技術を提供する。

【解決手段】 検体を定量的に採取して保持し得る毛細管、および前記毛細管に接して設けられた第 1 の磁性体を具備する検体用サンプリング素子を用い、前記毛細管に毛細管現象によって検体を定量的に採取して保持させ、前記毛細管を液系に接触させ、磁力によって前記毛細管を前記液系内において運動させ、前記毛細管から前記検体を放出させるとともに前記検体と前記液系とを攪拌しながら均一に混合する検体均一混合方法を提供する。

【選択図】 図 7

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2002-289871
受付番号	50201483285
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0090
作成日	平成14年10月 3日

## &lt; 認定情報・付加情報 &gt;

【提出日】	平成14年10月 2日
-------	-------------

次頁無

特願 2 0 0 2 - 2 8 9 8 7 1

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 5 8 2 1 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 2 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府門真市大字門真 1 0 0 6 番地

氏 名

松下電器産業株式会社